云 南 植 物 研 究 1987；9(2)：253—256
Acta Botanica Yunnanica

露水草工业生产蜕皮激素弃渣内的蜕皮甾酮

聂瑞麟 邱明华

（中国科学院昆明植物研究所，昆明）

THE PHYTOECDYSONES IN RESIDUE OF MOTHER LIQUID OF THE MOULTING HORMONE PRODUCED IN FACTORY FROM CYANOTIS ARACHINOIDEA

Nie Ruilin, Qiu Minhua

(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming*)

关键词 露水草；植物蜕皮激素
Key words *Cyanotis arachinoidea*; Phytoecdysone

我们曾报道从露水草（*Cyanotis arachinoidea* C. B. Clarke）中分离鉴定了β-蜕皮激素（β-ecdysone）（1）和它的2位乙酸酯（2-acetate of β-ecdysone（Ⅱ）[1]云南、贵州产露水草一般含β-蜕皮激素达植物干重的2%左右，资源十分丰富，且我所已家化栽培[2，3]。因此它是工业生产蜕皮激素十分理想的原料。由于蜕皮激素在调节桑蚕生长发育和增丝上具实用价值，十年来该产品已在全国蚕区广泛应用，获得很大的社会经济效益。

为更合理地利用生产蜕皮激素后的大量母液弃渣，增加产量，从而开展此研究。结果表明它除还含4%以上的β-蜕皮激素外（按母液干渣计），我们还应用国产大孔树脂层析法成功地从中分离到微量Ⅱ和三个极微量蜕皮甾酮：筋骨草素C（ajugasterone C）（Ⅲ）得率0.0012%，百日青甾酮A（ponasterone A）（$Ⅳ_a$）和海南陆均松甾酮（dacryhainansterone）（$Ⅳ_b$）两者得率0.00003%（均以全株干植物计）。这些微量甾酮在鸭跖草科植物中系首次发现。综阅有关文献，我们初步讨论了植源性蜕皮激素的结构相关性及其在植物体中的生物合成途径[4]。

该研究结果为利用生产蜕皮激素后的母液弃渣提供了依据。国产大孔树脂的应用，提供了微量蜕皮甾酮的有效分离方法。

1986-03-24收稿

	R^1	R^2	R^3
Ⅰ	H	H	OH
Ⅱ	Ac	H	OH
Ⅲ	H	OH	H
Ⅳa	H	H	H

方法和结果

熔点用微量熔点仪测定（温度计未校正）。紫外光谱用日本岛津UV-210A测定，无水乙醇为溶剂。红外光谱用日本岛津IR-450型测定，KBr压片。^{1}H、^{13}C核磁共振谱用Brucker WH-90MHz，WH-22.63MHz测定，内标：TMS，化学位移：δ（ppm）。质谱用Finnigan-4510型测定，EI 70ev。柱层硅胶：上海五四农场化学试剂厂产品（200目—300目）。薄层硅胶：青岛海洋化工厂产品（硅胶G10—40μm）。薄层显色剂10%硫酸乙醇溶液。展开剂为氯仿：甲醇（1：1）。聚苯乙烯大孔吸附树脂(DA-201)，天津制胶厂产品（60—100目）。

干燥粉碎露水草原料26.5kg，按照工艺程序[5]操作得蜕皮激素产品456g。母液弃渣浓缩干重190g，将其用25%甲醇水液溶解，过滤除去不溶物，蒸掉甲醇后再用乙酸乙酯萃取。水溶液经TLC检查含β-蜕皮激素和糖。乙酸乙酯部分浓缩干，重16g，用水溶解，通过丙酮净化处理大孔吸附树脂柱，分别用20、30、50、70%的醇水溶液冲洗。水溶液经浓缩得β-蜕皮激素和糖。20、30%部分得少量β-蜕皮激素。50%部分浓缩干重4g，再经硅胶柱层分离，用氯仿：甲醇（8：1）冲洗，得化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ（Ⅲ：320mg）。70%部分浓缩干重3.5g，再经硅胶柱层分离得Ⅳ$_a$和Ⅳ$_b$的混合物(Ⅳ) 8mg。

Ⅰ. mp 240—241°C（甲醇），250—251°C（乙酸乙酯）。Ⅱ. mp 130—132°C（乙酸乙酯、环已烷）。Ⅰ和Ⅱ的颜色反应、Rf值、UV、IR、^{1}H NMR 均与标准β-蜕皮激素和它的2位乙酸酯完全一致。

Ⅲ. 无色颗粒状结晶，mp[1)] 268—270(DMSO-d_6)。UV λ_{max}: 242nm(ε 11000)。IR

1）本品系测^{1}H NMR放置析出。

ν_{max} cm^{-1}：3440，1658。MS m/e：462 (M^+-H_2O)，444 (M^+-2H_2O)，426 (M^+-3H_2O)，379 ($M^+-C_6H_{13}O$)，361 ($M^+-C_6H_{13}O-H_2O$)，343 ($M^+-C_6H_{13}O-2H_2O$)，145 ($C_8H_{17}O_2$)，127 ($C_8H_{17}O_2-H_2O$)，109 ($C_8H_{17}O_2-2H_2O$)，101 ($C_6H_{13}O$)，83 ($C_6H_{13}O-H_2O$)。^1H NMR δ：0.75 (18-H，3H)，0.88 (6H，26、27-H)，1.08 (3H，19-H)，烯烃质子5.62。这些数据与文献相符[6]。

Ⅱ和Ⅳ$_a$的^{13}C NMR化学位移值 (C_5D_5N)

^{13}C Shieldings in the Ⅱ and Ⅳ$_a$ (ppm from TMS)

Carbon No.	Ⅱ	Ⅳ$_a$[7]	Carbon No.	Ⅱ	Ⅳ$_a$[7]
1	39.4	37.9	15	32.0	31.9
2	68.4$^{1)}$	68.0	16	21.6	21.4
3	68.8$^{1)}$	68.0	17	50.0	50.0
4	32.7	32.4	18	18.8	17.9
5	52.0	51.3	19	24.3	24.4
6	204.7	203.5	20	77.0	76.7
7	121.5	121.7	21	22.5	21.1
8	164.9	166.0	22	77.0	76.7
9	42.8$^{2)}$	34.4	23	30.3	30.2
10	32.7	38.7	24	37.0	37.1
11	68.0	21.4	25	28.2	28.1
12	44.3$^{2)}$	31.8	26	22.5	22.3
13	48.0	48.1	27	23.4	23.3
14	84.5	84.1			

1）、2）可互换

由表^{13}C数据相互比较知Ⅱ和百日青甾酮A（Ⅳ$_a$）边链相同，母核相似，按位移规律判断C_{11}确被羟基化，因此对Ⅱ的碳信号给予指定。参照C_{11}脱水的方法[6]，用Ⅱ约60mg，加入5％NaOH-MeOH溶液3 ml，室温放置3小时，使脱水成Ⅳ$_b$，其性质为UV λ_{max}：298nm（ε 11768）。IR ν_{max} cm^{-1}：1640，3400。MS m/e：361 ($M^+-C_6H_{13}O$)，343 ($M^+-C_6H_{13}O-H_2O$) 基峰，325 ($M^+-C_6H_{13}O-2H_2O$)，145 ($C_8H_{17}O_2$)，109 ($C_8H_{17}O_2-2H_2O$)。^1H NMR (DMSO-d_6) δ：各甲基信号0.77 (3H，s，18-H)，0.89 (6H，d，J＝5.2Hz，26、27-H)，0.99 (3H，s，19-H)，1.06 (3H，s，21-H)。烯氢5.62 (1H，d，J＝3Hz，7-H)，6.17 (1H，br·，11-H)。以上数据与文献报道由筋骨草素C合成的海南陆均松甾酮一致[6]，证实Ⅱ是筋骨草素C。

Ⅳ在薄层上虽然仅显示一斑点，但其性质与文献报道的百日青甾酮A和海南陆均松甾酮的混合物酷似，由于两者仅母核相差两个氢原子不易分离，故侯嵩生等人用质谱等手段，直接判定了混合物中的新化合物——海南陆均松甾酮的结构[6]。Ⅳ的性质为：UV λ_{max}：242nm（ε 9233，Ⅳ$_a$的7烯6酮），298nm（ε 3266，Ⅳ$_b$的共轭二烯酮）。IR ν_{max} cm^{-1}：1642，3400。MS中两组属Ⅳ$_a$和Ⅳ$_b$的特徵碎片为：428 (M^+-2H_2O)，363 ($M^+-C_6H_{13}O$)，345 ($M^+-C_6H_{13}O-H_2O$)，327 ($M^+-C_6H_{13}O-2H_2O$)是C_{20-22}键开

裂后的母核相继失水后的碎片。145 ($C_8H_{17}O_2$)，109 ($C_8H_{17}O_2$-H_2O)，83 (C_6H_{11}) 是C_{17-22}和C_{20-23}键开裂后的边链及失水后的碎片，显示两者边链完全相同。 Ⅳ$_b$：426 (M^+-$2H_2O$)。361、343、325为C_{20-22}键开裂后的母核及相继失水后的碎片，显示母核比Ⅳ$_a$少两个氢原子。

此外已知百日青甾酮A[2]在TLC上对10%硫酸显色剂呈红色，Ⅲ脱水得海南陆均松甾酮呈蓝色，两者混合点样展开，Rf值与混合物Ⅳ一致，并出现同样的紫色，由上述可判定Ⅳ是百日青甾酮A-Ⅳ$_a$和海南陆均松甾酮-Ⅳ$_b$的混合物，两者由UV计算约3：1。

致谢 工厂生产蜕皮激素母液弃渣系由昆明植物所中试工厂提供，植化室仪器组协助仪器分析。

参 考 文 献

1 聂瑞麟，许祥誉，何敏等．化学学报 1978；36：137—141

2 聂瑞麟，岳远征．云南植物研究 1983；5：317—318

3 陈宗莲．云南植物研究 1983；5：319—322

4 邱明华，聂瑞麟．云南植物研究 1987；9：119—128

5 聂瑞麟，科学技术成果报告（0135）。中国科学技术情报研究所编辑，北京：科学技术文献出版社，1979。

6 侯嵩生，王国亮，夏克敏．植物学报 1982；24：347—354

7 Hiroshi Hikio, Toru Okuyama, Chohachi Konno et al. *Chem Pharm Bull* 1975：23：125—132

2）该品曾由百日青中分离，见聂瑞麟等1975：云南植物研究（2）：9—13